

## 三倍体川百合的核型与酯酶同工酶鉴定

谢晓阳 武全安

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

**摘要** 在云南西北部怒江峡谷, 从川百合 *Lilium davidii* Duchartre 的一个群体中, 首次发现了该种的三倍体个体。本文采用核型及酯酶同工酶分析的方法, 以同一群体的二倍体 ( $2n=24$ ) 为对照, 对此三倍体进行了鉴定。它具有三组形态相同的染色体 ( $2n=3x=36$ ), 其核型与二倍体的基本相似; 酶谱也显示出三倍体和二倍体具有同源等位基因, 三倍体还出现明显的基因剂量效应等变异特征。它应是二倍体川百合的自然同源增倍体。

**关键词** 川百合; 三倍体; 核型; 酯酶同工酶

## THE DETERMINATION OF KARYOTYPE AND ISOESTERASE ON TRIPLOID LILIUM DAVIDII

XIE Xiao-Yang, WU Quang-An

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

**Abstract** In a diploid population of *Lilium davidii* D. in north-western Yunnan, triploid of the species with 36 ( $2n$ ) chromosomes was found for the first time. It was essentially coincident with the diploid ( $2n=24$ ) in morphological characters as well as in karyotypical and isoesterasal features, and might be sure to be an autotriploid of the species.

**Key words** *Lilium davidii*; triploid; Karyotype; Isoesterase

川百合 *Lilium davidii* Duchartre 分布在中国四川、云南、陕西和甘肃等地<sup>(1)</sup>。其变种四川百合 *L. davidii* var. *willmotiae* (Wilson) Rofill 为常见观赏植物, 鳞茎入药膳, 被广为栽培。这两个分类群的染色体数目都是  $2n=24$ <sup>(2-7)</sup>。但是, 我们在云南贡山怒江峡谷海拔 2000 m 处, 从川百合的 1 个二倍体群体中, 首次发现了该种染色体数为  $2n=36$  的三倍体个体。为了确定它的性质, 我们以二倍体为对照, 对其进行植物形态、核型、花粉母细胞染色体行为和酯酶同工酶鉴定, 现将结果报道如下。

## 材料与方 法

川百合 *L. davidii* D 引自贡山县, 现栽昆明植物研究所植物园, 凭证标本藏该园标本室。

染色体制片: 取鳞茎根尖经 0.1% 秋水仙碱溶液处理 3 小时; 卡诺固定液固定 30 分钟, 1 mol/L 盐酸在 60℃ 下解离 7 分钟; 改良苯酚品红染色。染色体数目计数了 40 个细胞; 核型分析依李懋学等<sup>(8)</sup>的标准, 取 3 个细胞的平均值; 花粉母细胞减数分裂观察, 适期花药经卡诺固定液固定, 改良苯酚品红染色。

酯酶同工酶谱: 采用常规聚丙烯酰胺凝胶垂直平板法, 浓缩胶浓度为 4%, 分离胶浓度为 10%。于植株现蕾期取花序下叶片 1 g 制样, 经离心后取上清液 50  $\mu$ L 点样; 在低于 6℃ 条件下, 以 20 v/cm 稳定电压电泳 5 小时。染色剂为乙酸- $\alpha$  萘酯、乙酸- $\beta$  萘酯和固蓝 RR 盐。用日产 CS-930 双光束光带扫描仪获得酶谱曲线 (滤光片为 470 nm)。

结 果 与 讨 论

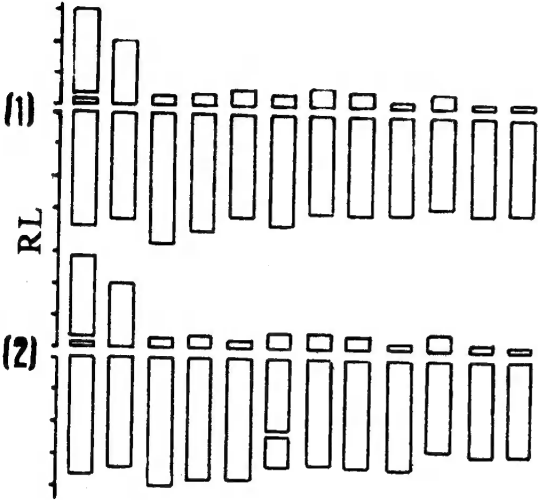


图 1 川百合二倍体和三倍体的核型

Fig.1 Karyograms of *L. davidii* D.

(1): diploid; (2): triploid

1. 植株形态 川百合三倍体植株的形态与二倍体并无本质不同, 但其数量性状明显优于后者 (表 1)。三倍体植株高达 240 cm, 茎上绒毛较密; 花数多达 22 朵, 花大色艳; 但蒴果空秕不育。

2. 核型 川百合二倍体的染色体数目为  $2n=24$ , 染色体长度比为 2.1, 核型公式  $K(2n)=24=4m+8st+12t$ ; 在第 1 号染色体的短臂近着丝粒具有次缢痕。川百合三倍体的染色体数目为  $2n=36$ , 染色体长度比为 2.0, 核型公式  $K(2n)=36=3m+3sm+9st+21t$ ; 在第 1 号染色体的短臂近着丝粒处、第 6 号等染色体的长臂中下部具有次缢痕 (图 1, 2; 表 2), 从这些图表可看出, 三倍体具有 3 组 ( $3x=36$ ) 形态相同的染色体, 它们与二倍体的两组染色体的形态是基本一致的; 染色体长度范围、长臂长度范围以及 st (t) 染色体的短臂长度范围和染色体长度比等主要核型参数也基本接近; 两者的第 1 号 m 染色体上均有次缢痕。

表 1 川百合三倍体与二倍体的数量性状比较

Table 1 Comparisons of the quantitative characters of triploid and diploid *L. davidii* D.

Characters	triploid	diploid
Plant height (cm)	220—240	150—160
Stem diameter (mm)	17—19	11—13
Stem hair density	+++++	+++
Length range of leaves (mm)	60—210	50—140
Length of an inner petle (mm)	70—90	55—70
Number of flowers	20—22	8—14
Tuber diameter (mm)	100—110	80—100

表 2 川百合二倍体和三倍体的核型参数

Table 2 The parameters of karyotypes of *L. davidii* D.

K(2n)=24=4m+8st+12t				K(2n)=36=3m+3sm+9st+21t			
No	RL	AR	Type	No	RL	AR	Type
1	6.03+7.26=13.29	1.20	m	1	5.64+7.28=12.92	1.28	m
2	4.06+6.58=10.64	1.62	m	2	3.89+6.82=10.71	1.75	sm
3	0.92+8.01=8.93	8.89	t	3	0.78+8.02=8.98	10.50	t
4	1.02+7.41=8.43	7.62	t	4	0.90+7.64=8.54	8.49	t
5	1.66+6.52=8.18	3.93	st	5	0.48+7.67=8.15	15.98	t
6	0.94+7.00=7.94	7.45	t	6	1.11+6.81=7.92	6.13	st
7	1.60+6.28=7.88	3.93	st	7	1.40+6.36=7.74	5.05	st
8	1.32+6.27=7.59	4.75	st	8	0.90+6.72=7.62	7.46	t
9	0.48+6.72=7.20	14.00	t	9	0.48+6.93=7.41	14.44	t
10	1.13+6.04=7.17	5.34	st	10	1.11+5.73=6.84	5.16	st
11	0.44+5.95=6.42	13.59	t	11	0.41+6.26=6.67	15.26	t
12	0.41+5.91=6.32	14.41	t	12	0.40+6.10=6.50	15.25	t

RL: Relative length of chromosome, AR: Arm ratio of chromosome

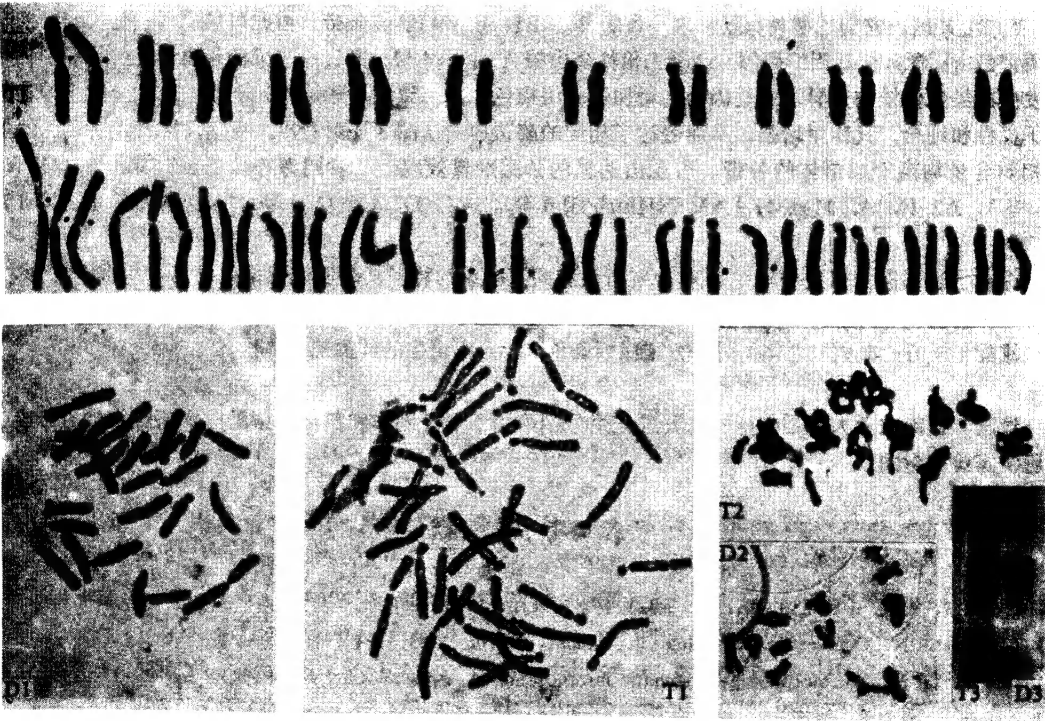


图 2 川百合的染色体和酯酶同工酶谱

体细胞染色体: D1, 二倍体 ( $2n=24$ ); T1, 三倍体 ( $2n=36$ ), 花粉母细胞减数分裂中期 I 的染色体对: D2, 二倍体 ( $2n=24=12\text{II}$ ); T2, 三倍体 ( $2n=36=2\text{I}+1\text{II}+8\text{III}+2\text{IV}$ ), 酯酶同工酶谱: D3, 二倍体; T3, 三倍体。

Fig. 2 Chromosomes and isoestrase zymograms of *L. davidii* D. Somatic chromosomes: D1, diploid ( $2n=24$ ); T1, triploid ( $2n=36$ ). Meiotic chromosome pairings at metaphase I in PMC: D2, diploid ( $2n=24=12\text{II}$ ); T2, triploid ( $2n=36=2\text{I}+1\text{II}+8\text{III}+2\text{IV}$ ). Isoestrase zymograms: D3, diploid; T3, triploid.

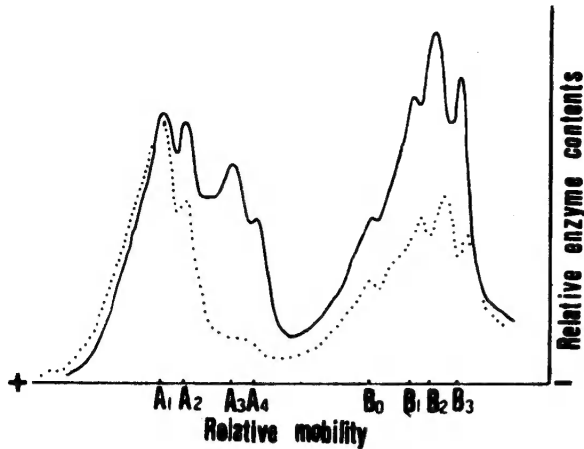


图3 川百合的酯酶同工酶谱

Fig.3 Isoesterase zymograms of *L. davidii* D.

---diploid; —triploid

在A区最前沿,二倍体和三倍体都具有迁移率一致的A1, A2两条带;三倍体还特异地出现A3, A4带。在B区,它们也都具有迁移率一致的B0, B1, B2和B3 4条带。由此可推测,三倍体与二倍体的酶带是由同源等位基因编码的。至于三倍体多出的A3和A4带,则进一步推测是由于三倍体在形成时所发生的染色体结构变异,或是因为当增加了一组染色体后,致使某些原来处于隐性或杂合状态的基因趋于显性和纯合,其作用增强,从而表达了相应的酶蛋白。从图3还可看出,三倍体酶谱上各酶带酶蛋白相对含量均高于二倍体的各带,表现出明显的基因剂量效应。二者同源等位基因有如: A1 (WW; WWW); A2 (MM; MMM); A3 (HHh或Hhh等); A4 (DDd或Ddd等); B区各带的基因型可类推。

综合上述形态、核型分析、减数分裂行为和同工酶谱的特征,表明此三倍体相对于川百合二倍体,具有遗传物质同质异量的基础,是为三倍体川百合 *L. davidii* D. ( $2n=36$ ),可以认为它是由二倍体祖先雌雄配子一方的减数染色体与另一方未减数染色体结合而衍生的同源三倍体。

**致谢** 云南农业大学稻作所和肖开进先生分别给予了酶谱制作和扫描的帮助; 本所顾志建老师给予细胞学实验的帮助。

## 参 考 文 献

- (1) 汪发纛, 唐进. 中国植物志第15卷. 北京: 科学出版社, 1980
- (2) Stewart R N. Occurrence of aneuploids in *Lilium*. *Bot Gaz* 1943; 104 (4): 620—626
- (3) Stewart R N. The morphology of somatic chromosomes in *Lilium*. *Amer J Bot* 1947; 34: 9—27
- (4) 郑国昌, 聂秀菡, 杨庆兰等. 细胞融合 (Cytomixis) 的光学与电子显微镜观察及其与变异和进化关系的探讨. *植物学报* 1975; 17 (1): 60—67
- (5) 贾敬芬, 谷祝平, 郑国昌. 百合花丝组织培养及其细胞学观察. *植物学报* 1981; 23 (1): 17—21
- (6) Zheng G, Yang O, Zheng Y. The relationship between cytomixis, chromosome mutation and karyotic evolution in lily. *Caryologia* 1987; 40: 243—259
- (7) 陈瑞阳, 安祝平, 宋文芹等. 植物染色体高分辨G-带技术研究. *植物学报* 1987; 29 (4): 341—346
- (8) 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题. *武汉植物学研究* 1985; 3 (4): 297—302

**3. 减数分裂中期的染色体** 在花粉母细胞减数分裂中期I, 二倍体形成12个二价体, 即  $2n=24=12\text{II}$ ; 三倍体的价体构成则为多样, 在同一细胞中存在I、II、III和IV等各式价体, 如  $2n=36=2\text{I}+1\text{II}+8\text{III}+2\text{IV}$ 等 (图2: D2, T2), 多价体形态复杂, 常相互交联而不易识别, 但在不同细胞中均以三价体占多数: I (0, 1, 2); II (1, 2); III (6, 8, 9); IV (1, 2, 3)。可见该三倍体3个染色体组的同源程度是很高的。

**4. 酯酶同工酶谱** 只有当分离胶浓度提高到10%, 川百合的酯酶同工酶才被分离成A, B, C三段酶带区。C区酶带迁移率最小, 显色最慢且不稳定, 故略去不予分析 (图2: D3, T3, 图3)。